

Parte II

6. Coloração de Gram (Coloração diferencial)

Amostra- Suspensão de *Escherichia Coli* e *Bacillus subtilis*



1. Preparar e fixar esfregaço a partir da suspensão de *E. coli* e *B.subtilis* seguindo as indicações dadas de 1 a 6.



Nota: Manter a tampa do tubo na mão e após o inoculação tapar o tubo.



2. Colocar a lâmina sobre um suporte e inundar com solução de Cristal Violeta e deixar actuar durante um minuto.



3. Lavar com água como indicado em 8 e escorrer em papel absorvente.



4. Inundar o esfregaço com solução de Lugol e deixar actuar durante 1 minuto.



5. Lavar com água como indicado em 8 e escorrer em papel absorvente



6. Descorar com álcool etílico a 96% durante 30 segundos, agitando suavemente.



7. Lavar com água como indicado em 8 e escorrer em papel absorvente



8. Corar com solução de Safranina durante 30 segundos.



9. Lavar com água como indicado em 8 e escorrer em papel absorvente

10. Observar ao microscópio com a objectiva de imersão.

➤ **Listar material e reagentes**

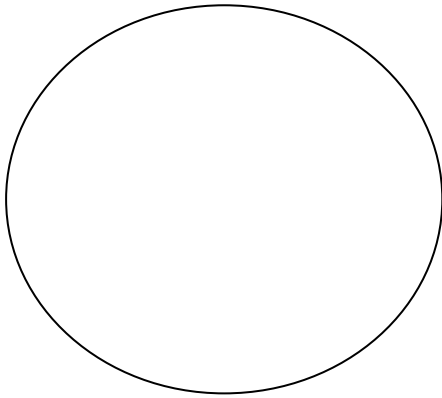
<u>Material</u>	<u>Reagentes</u>

- **Analisar os procedimentos**
- **Descrever resumidamente as etapas da coloração simples.**
- **Seleccionar o material e reagentes necessários para a actividade.**
- **Consultar as fichas de segurança dos respectivos reagentes a utilizar.**
- **Proceder à coloração de Gram utilizando as suspensões disponibilizadas.**

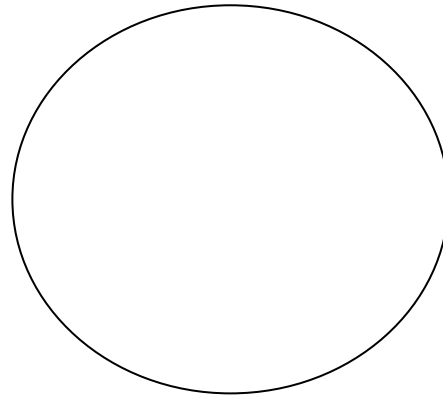
7. Registos

Esquema das observações

Amostra:



Amostra



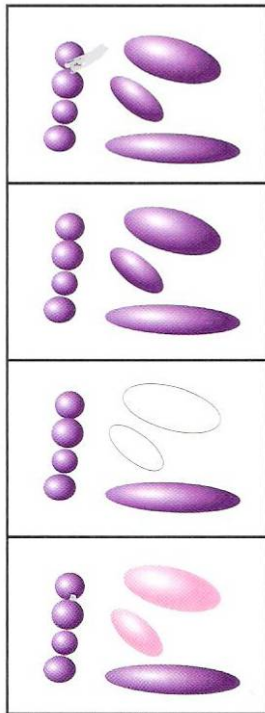
Ampliação Total:

Ampliação Total

Observações:

- Identificar cada uma das espécies de bactérias presentes nas amostras e descrever a sua forma e agrupamento.
- Legendar os esquemas efectuados.

- Preencher o quadro de acordo com as observações efectuadas. Discussão com os colegas e professor sobre as características da parede celular e membrana das bactérias Gram positivas e Gram negativas.



Etapas da coloração de Gram	Estado das bactérias
Corante primário Cristal Violeta	Todas as bactérias coram de violeta